

ゆば形成のメカニズム

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	国正,重乃
発行元	日本醸造協会
巻/号	113巻1号
掲載ページ	p. 24-28
発行年月	2018年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ゆば形成のメカニズム—脂質の影響およびタンパク質と脂質の相互作用

精進料理・懐石料理の中で古来より親しまれてきたゆばは、豆腐や納豆とともに和食を代表する高タンパクの大豆加工食品である。その製造方法は、豆腐を加熱した際に液面にできる被膜を掬い取るという一見単純なようなものであるが、ゆばが形成されるメカニズムには未だ不明な点がある。本稿では、ゆば形成メカニズムに関する最新の研究成果について解説いただいた。

国 正 重 乃

1. はじめに

ゆばは、加熱した豆乳中の液面が蒸発と濃縮することにより形成された被膜であり、栄養価の高い食品である。日本へは豆腐とほぼ同時期の奈良時代末期に中国から伝来し、豆腐製造の際の副産物として作られ、禅僧の重要なタンパク質源として用いられていた。そのため、門前町であった京都や日光にゆばが広められ、仏事や精進料理の一つとして発展してきた¹⁾。古来より保存性の観点から、乾燥ゆばや揚巻ゆばが食されてきたが、近年、健康志向の高まりと共に流通技術の発達により、生ゆばへの需要も増加傾向にあり、ゆばの生産量も急激に伸びている。

しかし、ゆば製造は単純な製造工程であるため、職人の経験や勘に頼る手作業が多く、また、製造時の環境条件によりゆばの硬さや収量が変動するため、未だに製造効率が悪いという問題点を抱えている。一方、豆乳を長時間加熱しているため、豆乳中の成分変化が起こり、最初に生成した被膜と最後に生成した被膜とでは著しく一般成分が変化する²⁾。最初に引き上げたゆばは「さくい」と呼ばれ、豆乳の気泡や浮遊物が入り破れやすいゆばができるが、二枚目に引き上げられたゆばは、膜の張りがよく、品質的にも色が白くきめ細かで滑らかなゆばとされている。しかし、最終膜になるに従い茶褐色で粗く厚みがあり、甘味を程する

「甘ゆば」となるため、品質がよくないゆばになる³⁾。このため、豆乳から100%ゆばを製造することはできず、豆乳に対して数十%廃棄する豆乳(廃豆乳)が出るため歩留まりがよくない食品であった。

ゆばの形成については、岡本らが大豆分離タンパク質(SPI:脱皮大豆よりタンパク質を抽出し乾燥したもの)溶液を加熱するとタンパク質の被膜が生成されること、同被膜中に大豆の主要タンパク質の β -コングリシニンおよびグリシニンがジスルフィド結合(SS結合)によって重合したものが存在することを報告している^{4),5)}。しかし、ゆば主成分である被膜骨格のタンパク質は固形量換算で約53%、次いで脂質も約37%と脂質も多く含まれているが、ゆば形成における脂質のゆば被膜形成への関与、タンパク質と脂質の相互作用については明らかにされていないため、その内容について検討を行った。

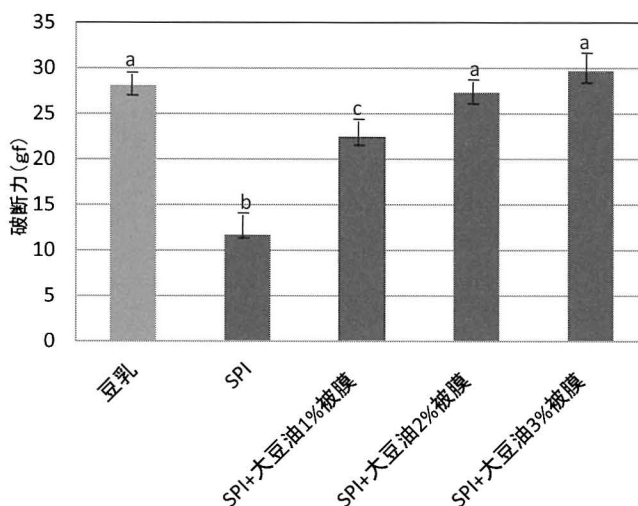
2. ゆばの性状に及ぼす脂質の影響

湯葉形成に対するタンパク質と脂質との関係性を検討するため、豆乳、SPIおよび大豆油添加SPI溶液から調製した被膜の性状を比較した。豆乳の被膜は白濁していたのに対し、SPI被膜は透明であったが、SPIに大豆油を1%添加すると白濁した被膜となり(第1図)、ゆば形成に脂質の存在が重要であることが明らかになった。また、被膜の破断力(gf)は、豆乳は約



ゆば(豆乳)被膜 SPI被膜 SPI+大豆油1%被膜 SPI+大豆油2%被膜 SPI+大豆油3%被膜

第1図 豆乳(ゆば)被膜および脂質添加SPI被膜の外観



第2図 豆乳(ゆば)被膜および脂質添加SPI被膜の破断強度

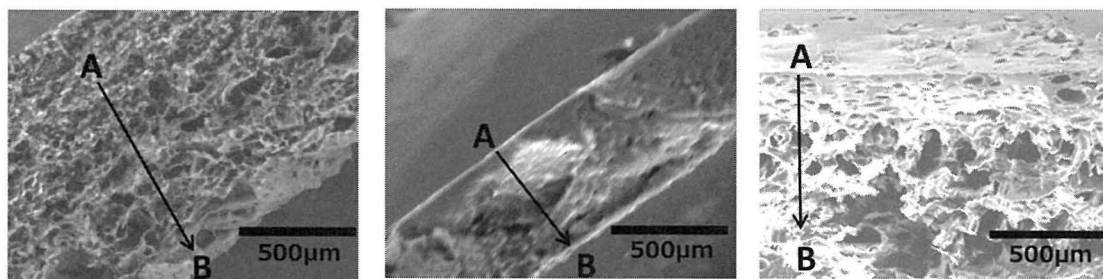
平均値±標準偏差(n = 10)

アルファベットの文字は Tukey-Kramer 法により有意差があることを示す(p < 0.05)

27gfを示し、SPIのみでは約12gfと豆乳の半分以下であったが、大豆油1～3%添加ではSPI被膜より破断力が高くなり、大豆油2%および3%添加では、豆乳の被膜とほぼ同様の破断力となり(第2図)、ゆばの形成時に脂質が取り込まれることにより安定した硬さの被膜となることが認められた。

3. ゆばの組織に及ぼす脂質の影響

豆乳、SPIおよび大豆油添加SPI被膜の断面を電子顕微鏡にて観察した⁶⁾(第3図)。豆乳の被膜では、気相に接した表面(A)が密な組織になっていたが、溶液に接していた液面(B)は多孔質な層になっていた



ゆば(豆乳)被膜断面

SPI被膜断面

SPI+大豆油2%被膜断面

A: 表面(気相側) B: 液面側

第3図 各種被膜の顕微鏡観察

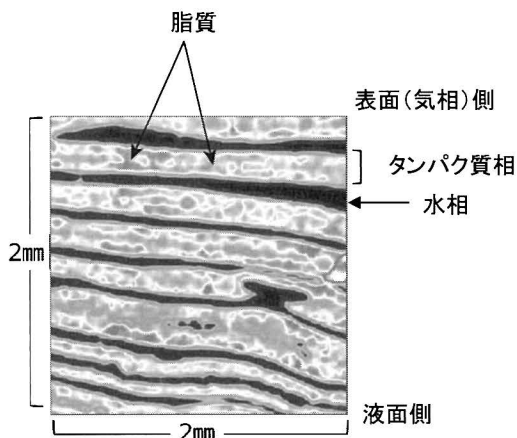
ることが確認された。一方、SPIの被膜は薄く、被膜全体の組織が密であり、豆乳の被膜とは組織が大きく異なっていた。大豆油2%添加SPI被膜は、豆乳の被膜と同様に多孔質の組織を示したことから、ゆば特有の組織を形成するためには脂質の存在が重要であることが明らかになった。ゆばの断面は多孔質であることは既に報告されているが^{7), 8)}、今回の試験において、脂質が存在することにより多孔質の組織が形成されることが推察された。

4. ゆば中のタンパク質と脂質の観察

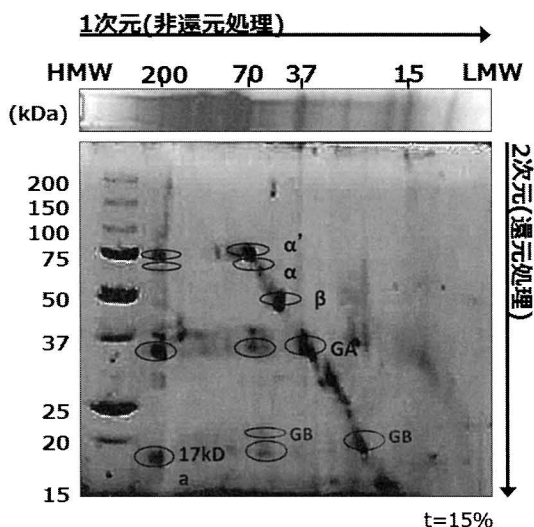
数十枚重ねたゆばを凍結用包埋剤で固めて-80℃で凍結させた後、断面の厚さ約10 μmに調整し、フッ化バリウムではさみ、赤外顕微鏡にアレイ検出を搭載したIRイメージング法⁹⁾にて、ゆばにおけるタンパク質と脂質の多層構造を観察した(第4図)。被膜はタンパク質相と水相が交互に存在し多層構造であった。また、タンパク質相内に脂質が油滴として連続して存在していることが明らかになった。

5. ゆばにおけるタンパク質の解析

ゆば被膜のタンパク質をLaemmli法^{10), 11)}に従い対角線電気泳動法により解析を行った(第5図)。大豆の主要タンパク質にはβ-コングリシニン(α', α, β)およびグリシニン(GA, GB)があり、ゆば被膜中では69kDaのβ-コングリシニンα', 63kDaのβ-コングリシニンのα, 32kDaの酸性の



第4図 豆乳(ゆば)被膜断面のタンパク質および脂質の分布(IRイメージング)



第5図 ゆば(豆乳)被膜のタンパク質の2次元目電気泳動

グリシニン(GA), 20kDaの塩基性のグリシニン(GB)および17kDaのスポットが存在していた。これらのタンパク質は分子間のSS結合により重合化して大きなタンパク質分子が形成されて不溶化し、被膜形成の骨格となるのではないかと推察された。

6. ゆばにおけるタンパク質と脂質の存在状態の解析

ゆば被膜中において、主要なタンパク質以外に確認された17kDaタンパク質についてLC-MS/MS分析した結果、16.5kDaの大豆オレオシン1-likeと初めて同定された(第1表)。

オレオシンは、脂質親和性タンパク質の一つであり、大豆種子中において油貯蔵体(オイルボディ)の膜を構成するタンパク質で¹²⁾、親水性環境下で脂質を安定に存在させいる¹³⁾ことが報告されている。オレオシンは、このほか24kDaおよび18kDaが存在するが¹⁴⁾、オレオシン1-likeのみにシステイン残基が存在する¹⁵⁾ため、主要な大豆タンパク質中のシステイン残基とSS結合を作ることができる。以上の結果より、豆乳中の油貯蔵体の膜タンパク質のオレオシンと大豆の主要タンパク質であるGAおよびGB、またはα, α'とがSS結合にて重合し、タンパク質と脂質が複合体を形成することにより、ゆば被膜が生ずることが明らかになった。

第1表 LC/MS/MSによる豆乳(ゆば)被膜中の分子量17kDaタンパク質の同定

豆乳(ゆば)被膜タンパク質		
·····GSYSYGTSYGAPYGTYYETNSSINNPPSR·····		

オレオシン 1-like	1 MATISTDQPRGSYSYGTSYGAPYGTYYETNSSINNPPSRQTVKFI TAATI	50
オレオシン 24kDa	1 MTTVPPHSVQVHTTTTHRYEAGVPPARFEAPRYEAGIKAPSSIYHSERGP	50
オレオシン 18kDa	1 MADRDRAGGYQQQRQGVGETVKGILPEKAPSASQALTVATLFLPLGGLL	50
オレオシン 1-like	51 GITLLLLSGLTTLTGTVIGLI IATPLLVI FSPILVPAAFVFLVASQFLFS	100
オレオシン 24kDa	51 TTSQVLAVVAGLPVGGI LLLLAGLTLAGTTLGLVVATPLFI IFSPVLIPA	100
オレオシン 18kDa	51 VLSGLALAASVVGLAVATPVFLIFSPVLVPAALLIGLAVAGFLTSGALGL	100
↓		
オレオシン 1-like	101 GGCGVA AIAALS WIYNYVSGNQPAGSDTLDYAKGYLTDKARDVKERAKDY	150
オレオシン 24kDa	101 TVAIGLAVAGFLTSGVFGLTLASSFSWILNYI RETQPASENLAAA AKHHL	150
オレオシン 18kDa	101 GGLSSLTFLANTARQAFQRTPDYVEQARRRMAEAAA HAGHKT AQAGHAIQ	150
オレオシン 1-like	151 GSYAQQRINEATQGT Y	166
オレオシン 24kDa	151 AEAAEYVGKTKKEVGQKTKKEVGQDI QSKAQDTREAAARDARDAREAAARD	200
オレオシン 18kDa	151 GRADQAGTGAGAGGGAGTKTSS	172
オレオシン 24kDa	201 ARDAKVEARDVKRTT V TATTATA	223

オレオシン 1-like : 相同率 100%

(NCBI-BLAST)

MW 17469

* : matched peptides, ↓ : システイン残基

7. まとめ

ゆば形成機序に関する研究は、タンパク質に着目して検討されてきたが、今回の研究でタンパク質被膜のより詳細な形成機序ならびに脂質との関係性を解明することができた。

ゆば形成における脂質の影響では、SPI 溶液のみでは薄く脆弱な被膜となるが、SPI に大豆油を添加することによって膜厚で安定した強度の被膜となり、ゆば形成に脂質が必要であることが認められた。また、ゆばはタンパク質相と水相が交互に存在し多層化しており、脂質はタンパク質相中に油滴の状態で局在していた。

次に、ゆば形成におけるタンパク質と脂質の相互作用については、豆乳中の油貯蔵体の膜タンパク質であるオレオシンが大豆主要タンパク質の GA, GB および α , α' と SS 結合し、脂質とタンパク質の複合体が形成され、被膜の骨格になることが明らかになった。

今後は、この成果を基に豆乳中の脂質を調整することによりゆばの品質と物性を安定させ、ゆば製造の生産性向上を図るとともに、高品質ゆばの開発に繋がることを期待したい。

(株式会社ミットヨ)

参考文献

- 1) 松永隆, 秋山照子: 地域資源活用「食品加工総覧」加工編 5 巻, 農業漁村文化協会, 207-214 (1999)
- 2) 国正重乃, 柳沼勲, 野口智弘, 高野克己, 内村信宏, 青柳吉紀: ゆばの褐変ならびにグルタチオンの抑制効果, 日本食品保蔵科学会誌, **28**, 331-336 (2002)
- 3) 国正重乃: ゆば物語, 食生活研究会誌, **28**, 43-48 (2008)
- 4) 白井正澄, 渡辺研, 岡本奨: 大豆 11S, 7S グロブリンからの湯葉状皮膜の生成と膜質について, 日本食品工業学会誌, **21**, 324-328 (1974)
- 5) 岡本奨: 伝統食品の研究 ゆばの科学, 日本伝統食品研究会誌, **10**, 43-49 (1991)
- 6) 国正重乃, 野口智弘, 高野克己: ゆば被膜形成における脂質の影響ならびにタンパク質と脂質の相互作用について, 日本食品保蔵科学会誌, **43**, 57-61 (2017)
- 7) 岡本奨: ゆば膜の生成と利用, 日本調理科学会誌, **9**, 135-141 (1976)
- 8) 高宮和彦, 関口みつえ: 大豆分離タンパク質の湯葉様皮膜の膜質と中間組織の形成, 日本食品科学工学会誌, **29**, 605-610 (1982)

- 9) 蔦瑞樹, 杉山純一, 相良泰幸: 近赤外分光イメージング法による食品品質計測法の開発, 日本食品科学工学会誌, **58**, 73-80 (2011)
 - 10) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685 (1970)
 - 11) 岡田雅人, 宮崎香: 「無敵のバイオテクニカルシリーズタンパク質実験ノート (下) 一次構造の決定まで」 第3版 (羊土社, 東京), pp.14-23 (1996)
 - 12) Huang, A.H.C.: Oil bodies and oleosins in seeds. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **43**, 177-200 (1992).
 - 13) 鈴木美葉子, 中村朋之, 岡井直子, 小川智久, 村本光二: 大豆プロテオリピド-アポたん白質とオレオシンの分子構造的相関性, 大豆たん白研究会会誌, **4**, 27-32 (2001)
 - 14) Gustav, W., Birgitta, S., Thomas, A.V. and Ann, J.: Soybean Oleosomes Behavior at the Air-Water Interface. *J. Phys. Chem.* **116**, 10832-10841 (2012).
 - 15) Rowley, D.L., Herman, E.M.: The upstream domain of soybean oleosin genes contains regulatory elements similar to those of legume storage proteins. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1345**, 1-4 (1997)
-